

Aktivitas Enzim Monooksigenase pada Larva *Culex quinquefasciatus* di Kabupaten Brebes

(Activity of Monooxygenase Enzymes in *Culex quinquefasciatus* in Brebes Regency)

Husnatun Nihayah^{1*)}, Budi Mulyaningsih², Sitti Rahmah Umniyati²

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember
Jl. Kalimantan 37 Jember 68121 Indonesia

²Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan,
Universitas Gadjah Mada

Jl. Farmako Sekip Utara, Yogyakarta 55281 Indonesia

*)Penulis Korespondensi E-mail: husnatunnihayah@unej.ac.id

Abstrak

Nyamuk *Culex quinquefasciatus* merupakan salah satu vektor penular penyakit filariasis bancrofti. Kabupaten Brebes adalah salah satu daerah endemik filariasis di Jawa Tengah. Upaya untuk mengurangi angka kejadian filariasis adalah dengan mengendalikan vektor penularnya. Salah satu jenis insektisida yang sering digunakan di kalangan masyarakat adalah dari golongan permetrin. Penggunaan insektisida dalam waktu lama dapat memicu timbulnya resistensi pada serangga. Resistensi dari golongan sintetik piretroid dapat diketahui melalui aktivitas enzim monooksigenase. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas enzim monooksigenase pada populasi nyamuk *Culex quinquefasciatus* di Kabupaten Brebes. Nyamuk sampel berasal dari pemasangan ovitrap di daerah endemik dan nonendemik filariasis bancrofti di Kabupaten Brebes. Nyamuk dikembangkan di Laboratorium Parasitologi Universitas Gadjah Mada sampai generasi ke dua. Uji aktivitas enzim monooksigenase dilakukan dengan metode yang dilakukan oleh Lee. Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan aktivitas enzim monooksigenase pada daerah nonendemik sehingga statusnya menjadi toleran. Toleran terhadap insektisida sintetik piretroid pada populasi *Culex quinquefasciatus* di daerah nonendemik filariasis di Kabupaten Brebes disebabkan karena penggunaan insektisida piretroid yang juga digunakan sebagai insektisida pertanian di wilayah penelitian.

Kata Kunci: monooksigenase, *Culex quinquefasciatus*, Brebes, toleran.

Abstract

Culex quinquefasciatus mosquito is a vector transmissible bancroftian filariasis. Brebes Regency is one of the endemic areas of filariasis in Central Java. Efforts to reduce the incidence rate of filariasis is by controlling the transmitting vector. one of the insecticide that often used in the community is the permetrin group. The use of insecticides for long time can trigger this insect to resistance. The resistance of sintetic piretroid can be known through the monooksigenase enzyme activity. The purpose of this study was to know the activity of the monooxygenase enzyme in *Culex quinquefasciatus* mosquito in Brebes Regency. Samples were taken from endemic and nonendemic areas of bancrofti filariasis using ovitrap. The rearing of mosquitoes in the parasitology laboratorium of Universitas Gadjah Mada until the second generation. The monooxygenase enzyme activity test was carried out by Lee's method. The result showed increase in the activity of the enzyme monooxygenase in nonendemic areas became tolerant status. Tolerant to pyretroid syntetic insecticides in the population of *Culex quinquefasciatus* in these area is caused by the use of pyretroid insecticides which are also uses as agricultural insecticides in the study area.

Keywords: monooxygenase, *culex quinquefasciatus*, brebes, tolerant.

PENDAHULUAN

Culex quinquefasciatus (Cx. *quinquefasciatus*) merupakan salah satu spesies hama di wilayah perkotaan. Spesies ini menjadi vektor penular berbagai jenis penyakit tular vektor pada manusia dan juga gigitannya yang sangat mengganggu manusia. Berdasarkan pada World Health Organization [1] Cx. *quinquefasciatus* merupakan vektor utama cacing parasit *Wuchereria bancrofti*, penyebab filariasis bancrofti. Penyakit filariasis adalah penyakit menular yang diperantarai oleh vektor, penyebabnya adalah cacing filaria yang menyerang saluran dan kelenjar getah bening dan ditularkan melalui gigitan nyamuk betina [2]. Sebanyak 1,3915 juta orang diseluruh dunia berisiko

tertular filariasis [3]. Tahun 2017 tercatat sebanyak 12.677 penderita filariasis di Indonesia. Kabupaten Brebes merupakan salah satu daerah endemik filariasis di Jawa Tengah. Jumlah penderita filariasis pada tahun 2013 adalah sebanyak 24 penduduk dengan Incidence Rate (IR) mencapai 1,35/100.000 penduduk. Jumlah tersebut mengalami peningkatan dari tahun 2012, IR sebesar 1,32/100.000 penduduk. Hasil pemeriksaan mikroskopis dari Dinas Kesehatan Kabupaten Brebes, pada tahun 2017 terdapat 37 penderita filariasis bancrofti. Daerah yang termasuk endemik filariasis bancrofti adalah Kecamatan Ketanggungan, sedangkan daerah yang termasuk nonendemik filariasis adalah Kecamatan Paguyangan [4] dan [5].

Nyamuk *Cx. quinquefasciatus* sebagai vektor utama filariasis bancrofti memiliki habitat utama di luar rumah, meliputi sawah, kolam, kanal air, potongan bambu [6], tempat penampungan kotoran, dan bekas kaki hewan ternak [7]. Namun demikian kebiasaan menghisap darah nyamuk *Cx. quinquefasciatus* tidak berbeda jauh antara diluar rumah dan didalam rumah [8].

Pengendalian penyakit tular vektor secara umum dapat dilakukan dengan melibatkan berbagai kategori seperti dari segi lingkungan, mekanik, kimiawi, dan biologi [3]. Pengendalian secara kimiawi umum dilakukan dengan menggunakan insektisida, baik melalui *fogging* maupun dalam bentuk insektisida rumah tangga. Penggunaan insektisida untuk mengendalikan vektor dalam jangka panjang dapat menurunkan kepekaan vektor [9]. Selain di rumah tangga, insektisida juga umum digunakan dalam bidang pertanian sebagai pemberantas hama [10].

Mekanisme resistensi suatu vektor pada suatu wilayah dapat dilakukan dengan melakukan uji biokimia untuk mengamati aktivitas enzim detoksifikasi didalam tubuh vektor. Metabolism senyawa xenobiotic didalam tubuh serangga akan didetoksifikasi oleh enzim monooksigenase. Peningkatan aktivitas enzim monooksigenase menjadi salah satu factor resistensi terhadap insektisida golongan sintetik piretroid [11].

Hasil penelitian mekanisme resistensi pada *Cx. quinquefasciatus* yang dilakukan oleh Kusbaryanto di Yogyakarta [12] menunjukkan adanya peningkatan aktivitas enzim esterase. Enzim esterase adalah enzim yang berperan dalam menghidrolisis insektisida golongan organofosfat. Selain itu *Cx. quinquefasciatus* dari Benin juga telah menunjukkan adanya resistensi terhadap permetrin, deltametrin dan DDT [13]. Uji biokimia dengan mengamati aktivitas enzim merupakan salah satu cara untuk mengetahui mekanisme resistensi terhadap insektisida. Enzim monooksigenase merupakan enzim yang berperan dalam menghidrolisis insektisida piretroid [14]. Penelitian terkait mekanisme resistensi nyamuk *Cx. quinquefasciatus* di Kabupaten Brebes belum banyak dilakukan. Oleh karena itu penelitian lebih lanjut terkait aktivitas enzim monooksigenase pada *Cx. quinquefasciatus* di Kabupaten Brebes perlu dilakukan sebagai salah satu upaya pengendalian filariasis bancrofti. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas enzim monooksigenase pada larva *Cx. quinquefasciatus* yang berasal dari Kabupaten Brebes.

METODE PENELITIAN

Pengumpulan sampel Nyamuk

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai bulan Juni 2018. Izin penelitian dikeluarkan oleh komisi etik Fakultas Kedokteran Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada (FK-KMK UGM) dengan nomor KE/FK/0074/EC/2018. Uji biokimia untuk mengamati aktivitas enzim dilakukan dengan menggunakan larva instar 4 [15]. Pengambilan sampel dilakukan dengan pemasangan ovitrap di daerah endemik dan nonendemik filariasis bancrofti di Kabupaten Brebes. Daerah endemik diwakili oleh Kecamatan Ketanggungan sedangkan daerah nonendemik diwakili oleh Kecamatan Paguyangan.

Pemasangan ovitrap di Kecamatan Ketanggungan dilakukan di Desa Ketanggungan, Dukuhturi, Karangmalang, Tanggungsari, Baros dan Cikeusal Lor. Pemasangan ovitrap di Kecamatan Paguyangan dilakukan di Desa Pakujati, Winduaji dan Kretek. Telur yang berhasil dikumpulkan dikembangbiakkan di Laboratorium Parasitologi FK- KMK UGM.

Uji Biokimia

Uji biokimia dilakukan dengan menggunakan metode Lee [16] dengan larva instar IV awal dari generasi kedua (F2). Larva digerus pada cawan porselin dalam 50 µl akuades, kemudian diencerkan dengan 150 µl akuades. *Homogenate* diambil 20 µl dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam mikropelat. Kontrol negatif 20 µl larutan buffer, kemudian ditambahkan 80 µl 0,0625 N pospat buffer. Sebanyak 25 µl hidrogen peroksida 3% ditambahkan ke dalam *microplate* dan didiamkan selama 2 jam. Hasil kemudian dibaca dengan menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 595 nm. *Cut off point* nilai *Optical Density* (OD) dihitung dengan rumus nilai rata-rata *Absorbance value* (AV) kontrol negative + 3SD kontrol negatif. Nilai *cut off point* dalam penelitian ini adalah 0,132.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemasangan ovitrap di Kecamatan Ketanggungan menunjukkan 4,28% positif telur, yaitu di Desa Karangmalang, Tanggungsari dan Baros. Ovitrap positif telur di Kecamatan Paguyangan sebesar 7,78%, yaitu di Desa Pakujati dan Desa Winduaji (Tabel 1). Namun pada proses *rearing* hanya diperoleh tiga lokasi yang berhasil dikembangbiakkan yaitu dari Desa Karangmalang, Pakujati dan Winduaji. Dengan demikian uji biokimia hanya dilakukan dengan sampel yang berasal dari 3 lokasi tersebut.

Tabel 1. Jumlah dan persentase (%) ovitrap positif telur *Culex* sp yang diambil di daerah endemis (Kec. Ketanggungan) dan non endemis (Kec. Paguyangan) filariasis bancrofti di Kabupaten Brebes.

No	Lokasi	Ovitrap Jml	Positif telur (n (%))
Daerah endemis filariasis			
1	Kec Ketanggungan	70	3 (4,28%)
Daerah nonendemis filariasis bancrofti			
2	Kec Paguyangan	90	7 (7,78%)

Hasil uji biokimia dari ketiga lokasi tersebut menunjukkan aktivitas enzim yang bervariasi. Sampel larva dari Desa Winduaji menunjukkan adanya peningkatan aktivitas enzim monooksigenase sehingga statusnya menjadi toleran. Sementara sampel larva dari lokasi lainnya masih tergolong rentan (Tabel 2)

Resistensi merupakan kemampuan populasi serangga untuk bertahan terhadap pengaruh insektisida yang biasanya mematikan [17]. Terdapat dua macam resistensi secara umum, yaitu resistensi perilaku dan resistensi fisiologi.

Resistensi perilaku merupakan perubahan perilaku pada populasi sebagai respon untuk menghindari insektisida. Sedangkan resistensi fisiologi adalah mekanisme bertahan secara biokimia didalam tubuh spesies ketika terjadi kontak dengan insektisida [18]. Lebih detail Liu (2015) menjelaskan mekanisme fisiologi didalam tubuh dapat berupa peningkatan detoksifikasi metabolik insektisida melalui overekspresi gen atau amplifikasi dan mutasi struktural gen P450, esterase dan Glutation S-Transferase (GST); atau karena adanya penurunan sensitivitas protein target yaitu reseptor AChEs (organofosfat dan karbamat), sodium channels (DDT dan piretroid), dan γ -aminobutyric acid/GABA (siklodin dan fipronil) terhadap insektisida melalui modifikasi atau mutasi [19].

Tabel 2. Hasil Uji Biokimia

Lokasi	Rata-rata OD	Status
Daerah endemic filariasis bancrofti		
Karangmalang	0,089	Rentan
Daerah nonendemik filariasis bancrofti		
Pakujati	0,105	Rentan
Winduaji	0,141	Toleran
Kontrol positif		
Laboratorium	0,115	Resisten
Kontrol negative		
Tanpa larva	0,088	Rentan

Cut off point = 0,132

Hasil uji biokimia tidak menunjukkan adanya peningkatan aktivitas enzim monooksigenase secara signifikan (Tabel 2). Hanya yang berasal dari Winduaji yang mengalami peningkatan aktivitas enzim monooksigenase, itupun baru pada tingkat toleran, belum resisten. Namun demikian peneliti tidak dapat menyimpulkan secara pasti bahwa nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang berasal dari Kabupaten Brebes masih rentan terhadap permetrin. Hal tersebut dikarenakan resistensi terhadap permetrin terkadang juga dikaitkan dengan aktivitas enzim lainnya. Beberapa penelitian menunjukkan adanya resistensi insektisida permetrin yang dikaitkan dengan peningkatan aktivitas enzim esterase non spesifik [20] dan [21]. Aktivitas enzim monooksigenase secara umum terkadang dikaitkan dengan resistensi insektisida golongan sintetik piretroid. Selain itu mekanisme resistensi juga bisa melalui adanya mutasi pada gen protein target [19]. Namun demikian perlu waspada akan resistensi pada nyamuk *Cx. quinquefasciatus*, karena hal tersebut juga menunjukkan mulai adanya peningkatan aktivitas enzim monooksigenase, meski masih pada status toleran. Penggunaan insektisida permetrin yang tetap dilanjutkan dikhawatirkan akan meningkatkan aktivitas enzim monooksigenase kembali sehingga statusnya menjadi resisten.

Berdasarkan wawancara terpimpin terhadap penduduk di lokasi penelitian menunjukkan bahwa masyarakat aktif menggunakan insektisida rumah tangga untuk membasmi nyamuk. Secara umum insektisida rumah tangga berasal dari golongan piretroid, hal ini juga merupakan golongan insektisida yang diizinkan oleh WHO sebagai insektisida rumah tangga [22]. Selain itu data dari dinas pertanian

Kabupaten Brebes juga memperlihatkan beberapa jenis pestisida pertanian yang juga berasal dari golongan piretroid seperti Agrosiper 100 EC, Buldok 25 EC, Cendrik 100 EC, Fastac 15 EC, Lotsa 50 EC, dan Rizotin 100 EC [23]. Peningkatan aktivitas enzim monooksigenase dari Kecamatan Winduaji dimungkinkan akibat penggunaan insektisida pada bidang lainnya selain bidang kesehatan. Hal tersebut menyebabkan adanya paparan secara tidak sengaja terhadap nyemuk *Cx. quinquefasciatus*.

KESIMPULAN

Nyamuk *Cx. quinquefasciatus* yang berasal dari Kabupaten Brebes telah mengalami peningkatan aktivitas enzim monooksigenase hingga status toleran. Sebagai bagian dari saran-saran penelitian, diharapkan masyarakat lebih bijak dalam menggunakan insektisida baik dalam bidang kesehatan maupun bidang pertanian karena hal tersebut dapat memicu penurunan status kerentanan nyamuk terhadap insektisida.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti ingin mengucapkan terima kasih kepada Dinas Kesehatan Kabupaten Brebes dan Dinas Pertanian Kabupaten Brebes atas bantuannya melalui penyediaan data-data pendukung. Peneliti juga ingin mengucapkan terima kasih kepada staf Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada yang telah membantu dalam pelaksanaan uji laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] WHO. Global programme to eliminate lymphatic filariasis: progress report on mass drug administration, 2010. *Weekly Epidemiological Record* vol.86, no. 35, pp. 377-388, 2011.
- [2] A. Harpini, Infodatin: Menuju Indonesia Bebas Filariasis. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2018.
- [3] World Health Organization. *Handbook for Integrated Vector Management*. World Health Organization. 2012.
- [4] Dinas Kesehatan Kabupaten Brebes. *Profil Kesehatan Kabupaten Brebes 2013*. Dinas Kesehatan Kabupaten Brebes, Brebes, 2014.
- [5] Dinas Kesehatan Kabupaten Brebes. Data Penderita Filariasis di Kabupaten Brebes. [Tidak dipublikasikan]. Dinas Kesehatan Kabupaten Brebes, Brebes, 2017.
- [6] E.J. Muturi, J. Mwangangi, J. Shililu, B.G. Jacob, C. Mbogo, J. Githure and R.J. Novak. Environmental Factors Associated with the Distribution of *Anopheles arabiensis* and *Culex quinquefasciatus* in a Rice Agro-ecosystem in Mwea, Kenya. *Journal of Vector Ecology*, vol. 33 no. 1, pp. 56 – 63, 2008.
- [7] M. Mahgoub, E. Kweaka, and Y. Himeidan. Characterisation of Larval Habitats, species composition and factors associated with the seasonal abundance of mosquito fauna in Gezira, Sudan. *Infectious Disease of Poverty*, vol. 6, no. 23, pp. 1-10, 2017.

- [8] E. Uttah, G. Wokem, and C. Okonofua. The abundance and biting patterns of *Culex quinquefasciatus* say (Culicidae) in the Coastal Region of Nigeria. *Hindawi Publishing Corporation ISRN Zoologi*, Article ID 640691, 2013.
- [9] B. Kamgang, S. Marcombe, F. Chandre, E. Nchoutpouen, P. Nwane, J. Etang, V. Corbel, and C. Paupy. Insecticide Susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Central Africa. *Journal of Parasites and Vectors*, vol. 4, pp. 1-8, 2011.
- [10] Kementerian Pertanian RI, Pestisida Pertanian dan Kehutanan Tahun 2016, Kementerian Pertanian RI. Jakarta, 2016.
- [11] C.H. Walker, R. M. Sibly, S.P. Hopkin, and D.B. Peakell. *Principles of Ecotoxicology, Third Edition*. CRC Press, New Yowk, 2005.
- [12] Kusbaryanto, *Deteksi Resistensi Insektisida Malation dengan Teknik Noda Kertas Saring pada Larva Culex quinquefasciatus Say (Diptera: Culicidae) di Sleman Daerah Istimewa Yogyakarta*, Tesis Universitas Gadjah Mada, 2001.
- [13] A. Yadouleton, K. Badiou, R. Agbanrin, H. Jost, R. Attolou, R. Srinivasan, G. Padonou, and M. Akogbeto, Insecticide Resistance Status in *Culex quinquefasciatus* in Benin. *Journal of Parasites and Vectors*, vol. 8 no.1, pp. 1 – 6, 2015.
- [14] D. Widiastuti, S. Sunaryo, N. Pramestuti, dan M. Martini. Aktivitas Enzim Monooksigenase pada Populasi Nyamuk *Aedes aegypti* di Kecamatan Tembalang, Kota Semarang. *Jurnal Aspirator*, vol. 7, no. 1, pp. 1-6, 2015.
- [15] World Health Organization. *Techniques to Detect Insecticide Resistance Mechanisms (Field and Laboratory Manual)*, WHO Communicable Disease. Atlanta, 2000.
- [16] H. Lee, O. Abimbola, and K. Singh. Determination of insecticide susceptibility in *Culex quinquefasciatus* say adults by rapid enzyme microassays. *Southeast Asean Journal Tropical Medicine Public Health*, vol. 23, no.3, pp. 458 – 463, 1992.
- [17] R. Hoedojo dan Zulhasril. *Buku Ajar Parasitologi Kedokteran: Insektisida dan Resistensi*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 2008.
- [18] D.R. Roberts, and R.G Andre. Insecticide resistance issues in vector-borne disease control. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, vol. 50, no. 6, pp. 21-34, 1994.
- [19] N. Liu N Insecticide Resistance in Mosquitoes: Impact, Mechanisms, and Research Directions. *Annual Reviews of Entomology*, vol. 60, pp. 537 – 559, 2015.
- [20] S. Pethuan, N. Jirakanjanakit, S. Saengtharatip, T. Chaereonviriyaphap, D. Kaewpa, and P. Rongnoparut. Biochemical Studies of Insecticide Resistance in *Aedes (Stegomyia) aegypti* dan *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Diptera: Culicidae) in Thailand. *Journal of Tropical Biomedicine*, vol. 24, no. 1, pp 7 – 15, 2007.
- [21] Widiarti, D.T. Boewono, dan Mujiono. Uji Biokimia untuk Identifikasi Mekanisme Resistensi Ganda Vektor Malaria terhadap Insektisida di Jawa Timur. *Jurnal Vektora*, vol. 1, no.1, pp. 23 – 33, 2009.
- [22] Sentra Informasi Keracunan Indonesia, Piretroid dan Antinyamuk. 2016. Diakses tanggal 1 Juli 2020. <http://ik.pom.go.id/v2016/artikel/Artikel%20Piretroid.pdf>.
- [23] Dinas Pertanian Kabupaten Brebes, Jenis Pestisida yang Beredar di Wilayah Kecamatan Ketanggungan, Brebes, Jawa Tengah. 2017.